

На правах рукописи

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии
им. И.П. Павлова Российской академии наук

Губаревич Елена Алексеевна

**НАУЧНЫЙ ДОКЛАД ОБ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТАХ НАУЧНО-КВАЛИФИКАЦИОННОЙ
РАБОТЫ**

**НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАЛИЗАЦИИ АВТОНОМНЫХ
ФУНКЦИЙ ОРБИТОФРОНТАЛЬНОЙ КОРЫ**

Программа подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению
подготовки кадров высшей квалификации 06.06.0 1 Биологические науки, специальность
1.5.5 – Физиология человека и животных

Научный руководитель: Александров Вячеслав Георгиевич, ведущий научный сотрудник,
научный руководитель группы нейрофизиологии висцеральных систем ИФ РАН,
доктор биологических наук, профессор

Работа выполнена в группе нейрофизиологии висцеральных систем Федерального
государственного бюджетного учреждения науки ИФ РАН

Допустить к представлению научного доклада - _____ 2024г.

Санкт-Петербург 2024

Оглавление

Актуальность темы исследования	3
Цель работы и задачи экспериментального исследования	4
Научная новизна полученных результатов	4
Теоретическая и практическая значимость работы	5
Публикации по теме работы	5
Апробация полученных результатов	5
Личный вклад автора	6
Объект и методы исследования	6
Результаты и их обсуждение	9
Эффекты электрической микростимуляции латеральной орбитальной коры	9
Влияние микроинъекций хлорида кобальта в инфралимбическую кору на эффекты микростимуляции латеральной орбитальной коры	13
Влияние электрической микростимуляции латеральной орбитальной коры на барорефлекторную чувствительность	17
Заключение	20
Выходы	21
Список публикаций по теме научно-квалификационной работы	22
Список использованных литературных источников	23

Актуальность темы исследования

Вопрос о механизмах, реализующих участие коры больших полушарий в контроле автономных функций, остаётся одной из фундаментальных проблем нейрофизиологии и физиологии висцеральных систем. Согласно современным представлениям, автономные функции находятся под контролем центральной автономной сети (CAN), которая образована структурами, расположенными на разных уровнях нервной оси (Benarroch 1993, Lamotteetal 2021). В состав CAN наряду с подкорковыми и стволовыми структурами включают две области префронтальной коры (PFC), а именно инфралимбическую кору (IL) и кору инсулярной области (INS), которые размещаются, соответственно, на медиальной и латеральной поверхностях полушария (Aleksandrovetal 2022). Предыдущими исследованиями установлено, что эти области PFC связаны с многочисленными подкорковыми и стволовыми автономными центрами. Экспериментальные воздействия на каждую из этих так называемых «автономных» или «висцеральных» областей изменяют состояние систем кровообращения и дыхания, что проявляется в изменениях артериального давления и сердечного ритма (ResstelandCorrêa 2005, Marinsetal2013), а также в специфических перестройках паттерна дыхания (Aleksandrovetal 2007). Кроме того, имеются многочисленные данные, которые свидетельствуют о том, что как IL (Resstel etal 2004,Lagattaetal 2015), так и INS (Ferreira-Junioretal 2020, Tumanovaetal 2022) способны модулировать активность барорефлекса (BR), важнейшего рефлекторного механизма, регулирующего артериальное давление (AP).

Вместе с тем, согласно теории нейровисцеральной интеграции (NVI), которая основана на концепции CAN, в контроле автономных функций принимает участие гораздо большее число областей префронтальной коры (Smithetal., 2017; Nagaietal., 2010; Cattaneoetal., 2021), включая поля, расположенные на орбитальной и фронтальной поверхностях полушарий (OFC). Современными исследованиями доказана роль полей OFC в организации сложных форм поведения (Mathiasenetal., 2023), которые, в свою очередь, требуют соответствующего автономного сопровождения (VanEadenetal., 2000). Представления о возможном участии OFC в контроле автономных функций подтверждается морфологическими исследованиями, которыми установлено, что OFC образуют связи с IL и INS, а также с другими структурами CAN (Rudbeck 2018). Наличие у OFC автономных функций подразумевает её участие в формировании паттернов активности висцеральных систем и модуляции соответствующих рефлекторных механизмов. Можно также предполагать, что эти функции OFC реализуются путём её

взаимодействия с различными структурами САН, в том числе с её кортикальными узлами. Механизмы этого взаимодействия практически не изучены и на восполнение указанного пробела направлена настоящая работа.

Цель работы

Цель работы состояла в экспериментальной проверке гипотезы, согласно которой поля префронтальной коры, расположенные на орбитальной поверхности коры больших полушарий, принимают участие в контроле автономных функций, изменяя паттерны активности висцеральных систем, модулируя рефлекторные механизмы и взаимодействуя при этом с областями коры, входящими в центральную автономную сеть.

Задачи экспериментального исследования.

1. В острых экспериментах на анестезированных крысах исследовать возможные циркуляторные и респираторные эффекты электрической микростимуляции одного из полей OFC, имея в виду возможные изменения артериального давления, частоты сердечных сокращений, а также паттерна дыхания.

2. Исследовать возможное участие полей висцеральной коры в реализации автономных функций OFC и для этого изучить влияние микроинъекций раствора неспецифического блокатора CoCl_2 в IL на один из автономных эффектов электрической микростимуляции орбитофронтальной коры.

3. Оценить возможность модулирующего влияния орбитофронтальной коры на барорефлекс, важнейший рефлекторный механизм, контролирующий артериальное давление, и с этой целью изучить действие электрической микростимуляции этой области коры на барорефлекторную чувствительность.

Научная новизна полученных результатов

Впервые установлено, что электрическая микростимуляция латеральной орбитальной коры анестезированной крысы вызывает депрессорную реакцию системы кровообращения и перестройки паттерна дыхания, дано количественное описание этих эффектов и экспериментально доказана их специфичность по сравнению с аналогичными эффектами электрической микростимуляции висцеромоторной инфралимбической коры. Тем самым было доказано возможное участие латеральной орбитальной коры в процессе формирования паттернов активности систем кровообращения и дыхания.

Эксперименты показали, что микроинъекции раствора CoCl_2 в инфралимбическую кору обратимо подавляли специфическую депрессорную реакцию системы кровообращения на электрическую микростимуляцию латеральной орбитальной коры. Эти приоритетные экспериментальные данные доказали, что участие латеральной

орбитальной коры в контроле функции кровообращения реализуется при посредстве инфралимбической коры. Было установлено, что электрическая микростимуляция латеральной орбитальной коры приводит к увеличению барорефлекторной чувствительности. Этим было впервые прямо доказано возможное участие орбитальной префронтальной коры в модуляции активности автономных рефлексов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическое значение работы состоит в том, что полученные результаты существенно расширяют и дополняют современные представления о функциях орбитофронтальной коры и механизмах кортикального контроля автономных функций в целом. Они прямо доказывают участие полей орбитофронтальной коры в контроле автономных функций, в частности функций кровообращения и дыхания, путём перестройки паттернов активности этих систем и модуляции автономных рефлексов. Кроме того, эти результаты подтверждают предположения о том, что поля орбитофронтальной коры реализуют свои автономные функции путём взаимодействия со структурами, входящими в центральную автономную сеть. С другой стороны, из клинической практики известно, что характерные изменения активности орбитофронтальной и медиальной префронтальной коры, а также нарушение их взаимодействия наблюдаются при некоторых психических заболеваниях, которые сопровождаются изменением активности висцеральных систем. Делаются попытки использовать для терапии этих заболеваний метод транскраниальной электрической стимуляции. Результаты настоящего исследования необходимо учитывать при разработке протоколов использования этого метода лечения для того, чтобы избежать возможных опасных побочных эффектов в виде резкого падения артериального давления, остановки или нежелательной перестройки паттерна дыхания.

Публикации по теме работы

По теме научно-квалификационной работы опубликовано 4 статьи в журналах из списка ВАК, ещё 1 статья проходит рецензирование в Российском физиологическом журнале. Кроме того, опубликована статья в журнале Интегративная физиология и 10 тезисов в материалах конференций различного уровня, в том числе в материалах XXIV Съезде физиологического общества.

Апробация полученных результатов

Результаты работы были представлены на XXIV Съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023), на Всероссийских конференциях с международным участием «Интегративная физиология» (Санкт-Петербург, 2021, 2022,

2023), на XXVIII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2022» (Санкт-Петербург, 2022), XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2022» (Москва, 2022)

Личный вклад автора

Все научные результаты, представленные в работе, получены автором самостоятельно или с его личным участием.

Объект и методы исследования.

Эксперименты выполнены на самцах крыс линии Wistar, вес 260-300 г, предоставленных Центром коллективного пользования “Биоколлекция” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Протоколы экспериментов соответствовали международным рекомендациям по проведению биомедицинских исследований и были одобрены Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных при Институте физиологии им. И.П. Павлова РАН (заключение Комиссии №09/14 от 14 сентября 2022 г.).

Аnestезия. В качестве анестетика использовали уретан (1,8 г/кг, в/б); глубину наркоза контролировали по степени выраженности корнеального и болевого рефлексов. Температуру тела животных поддерживали на уровне 37°C при помощи гомеотермического контроллера (ML295/R, ADInstruments, Австралия).

Оперативная подготовка животных. При подготовке животного к эксперименту производили трахеостомию с установкой трахеостомической трубки, катетеризацию правой бедренной артерии и вены, а также локальную краниотомию.

Регистрация параметров кровообращения и дыхания. Артериальное давление (АД) регистрировали с помощью датчика артериального давления (MLT1199), подключенного к входу мостового усилителя (ML224). Параметры внешнего дыхания определяли методом пневмотахометрии. Для регистрации пневмотахограммы (PTG) использовали пневмометрическую трубку (MLT10L), соединённую с пневмотахометром (ML141). Сигналы AP и PTG подавали на вход устройства сбора данных PowerLab 8 регистрировали и обрабатывали при помощи пакета специализированных программ LabChart7 *on-* и *offline*. Определяли и регистрировали AP, среднее АД (MAP), частоту сердечных сокращений (HR), дыхательный объём (VT), длительность дыхательного цикла (Ttot), максимальные потоки на вдохе (Vimax) и выдохе (Vemax).

Стереотаксис. Стимулирующие микроэлектроды и микроканюли погружали в структуры головного мозга, при помощи стереотаксического аппарата (SR-5R-HT,

Narishige, Япония), снабженного микроманипулятором (SM-15L). Координаты структур определяли по стереотаксическому атласу мозга крысы (Paxinos and Watson, 1987).

Электрическая микростимуляция коры. Для электрической микростимуляции коры использовали монополярные металлические электроды сопротивлением 0,1 МОм, индифферентный электрод погружали в шейные мышцы. Серии (длительность 10-20 с) прямоугольных импульсов тока отрицательной полярности силой 150-200 мА, длительностью 0,5-1 мс, частотой 50 имп/с генерировал программируемый стимулятор с изолированным выходом (модель 4100, A-M Systems, США).

Микроинъекции растворов. Метод микроинъекции был использован для выключения исследуемых структур путём введения в них микрообъёмов раствора, содержащего ионы Co^{2+} . Эти ионы способны блокировать пресинаптические Ca^{2+} -каналы, нарушая выделение медиатора и подавляя синаптическую передачу (Kretz, 1984; Fortaleza, 2015). Микроинъектор представлял собой стальную трубку внешним диаметром 100 мкм, которую при помощи гибкой полиэтиленовой трубки соединяли с микрошприцом (CR 700-20, Hamilton, США). Микроинъектор и соединительная трубку были заполняли 1-2 мМ раствором CoCl_2 или, в контрольных экспериментах, физиологическим раствором. Объём раствора равнялся 1 мкл, время введения составляло 2-3 минуты.

Тестирование барорефлекса. Состояние барорефлекса оценивали путём измерения барорефлекторной чувствительности (BRS). Для этого крысе через венозный катетер вводили 135 мкл физиологического раствора, содержавшего 0.05% адреномиметика фенилэфрина (PHE, Merk, Germany). Раствор PHE вводили со скоростью 45 мкл/с при помощи шприцевого насоса (AL-300, World Precision Instruments, США). Повышение периферического сопротивления, сосудов вследствие сокращения их стенок, вызванного PHE, приводило к кратковременному повышению AP и рефлекторному снижению HR. Для количественной характеристики BRS определяли величину наклона (слопа, slope) прямой, аппроксимирующей зависимость между увеличением MAP и соответствующим снижением ЧСС. С этой целью на фрагменте записи, отражающей изменение MAP, вызванное PHE и, соответственно, рефлекторное снижение HR, выделяли интервал, продолжительностью 2.0-2.5 секунды, на протяжении которого оба параметра изменялись линейно. На этом интервале определяли величину повышения АДср ($\Delta\text{ADср}$) и абсолютную величину падения ЧСС ($\Delta\text{ЧСС}$). Наклон или слоп (slope) рассчитывали как соотношение

$$\Delta\text{HR} (\text{уд}\cdot\text{мин}^{-1}) / \Delta\text{MAP} (\text{мм рт. ст.}) = \text{slope} (\text{уд}\cdot\text{мин}^{-1}/\text{мм рт. ст.}).$$

Гистологический контроль. После завершения эксперимента животное усыпляли путем передозировки уретана, проводили краниотомию и извлекали мозг. для последующего гистологического контроля. Извлечённый головной мозг фиксировали в 10% формалине в течение 3 дней. Затем на замораживающем микротоме изготавливали фронтальные срезы толщиной 75 мкм и по трекам, оставшимся после извлечения электрода, верифицировали области коры, подвергавшиеся экспериментальным воздействиям (рис. 1).

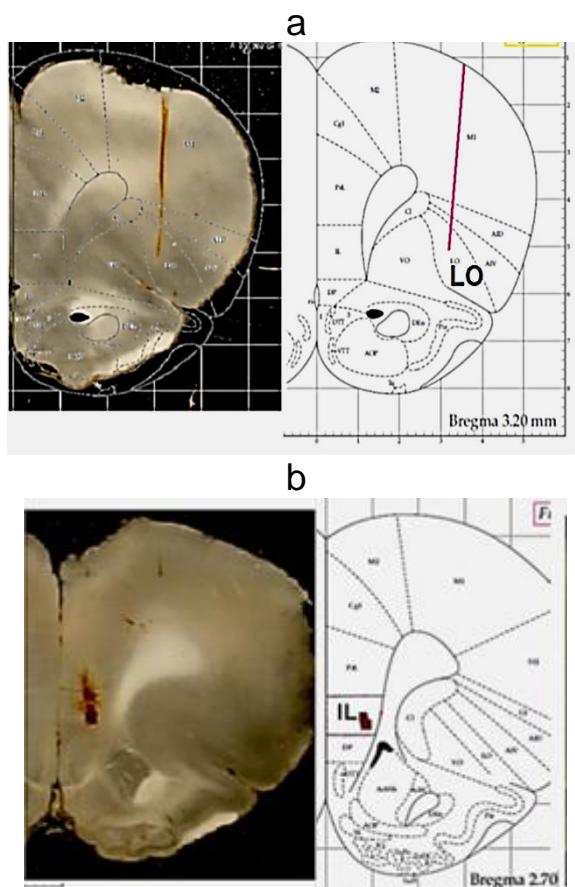


Рис. 1. Верификация областей коры, подвергнутых экспериментальным воздействиям в репрезентативном эксперименте.

а – электрическая микростимуляция LO, б – микроинъекция раствора CoCl_2 в IL.

На каждой панели слева –микрофотографии срезов, справа – соответствующие листы стереотаксического атласа (Paxinos, Watson 1987)

Статистическая обработка. Измерения учитываемых параметров производили средствами LabChart 7.0. Полученные данные обрабатывали при помощи пакета анализа MS Excel, рассчитывая средние значения и стандартную ошибку среднего ($M \pm SEM$) всех учитываемых параметров. Для дальнейшей статистической обработки использовали пакет программ Statistica (версия 7.0, StatSoft, США). Сравниваемые выборки проверяли на

соответствие нормальному распределению при помощи теста Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий между величинами определяли, используя метод однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), и критерий Манна-Уитни, критический уровень значимости при проверке нулевой гипотезы принимался равным 0.05

Результаты и их обсуждение

Эффекты электрической микростимуляции LO

Первую задачу экспериментального исследования решали постановкой экспериментов ($n=6$), в каждом из которых попеременно, с интервалом 20 минут, подвергали электрической микростимуляции LO и IL. В ходе эксперимента каждую область коры стимулировали трижды, так что в общей сложности было зарегистрировано по 18 ответов на стимуляцию каждой из исследованных областей коры. Координаты для IL были следующие: глубина 4,0-4,5 мм от поверхности мозга, +2,5 мм относительно уровня bregma, 0,5 мм латеральнее сагиттальной плоскости; координаты для LO, соответственно: глубина 4,2 мм, +3,2 мм относительно bregma; 3,2 мм латеральнее сагиттальной плоскости.

Реакции системы кровообращения. Стимуляция IL вызывала снижение МАР, которое не сопровождалось заметными изменениями HR (Рис. 2, а), на стимуляцию LO система кровообращения реагировала так же падением, но временное течение этих депрессорных ответов было иным (Рис. 2, б). Отличие заключалось в том, что на фоне стимуляции LO происходило постепенное снижение МАР до минимальных значений, которые сохранялись до окончания действия стимула. Напротив, депрессорный эффект стимуляции IL постепенно ослабевал на фоне действующего стимула. Кроме того,

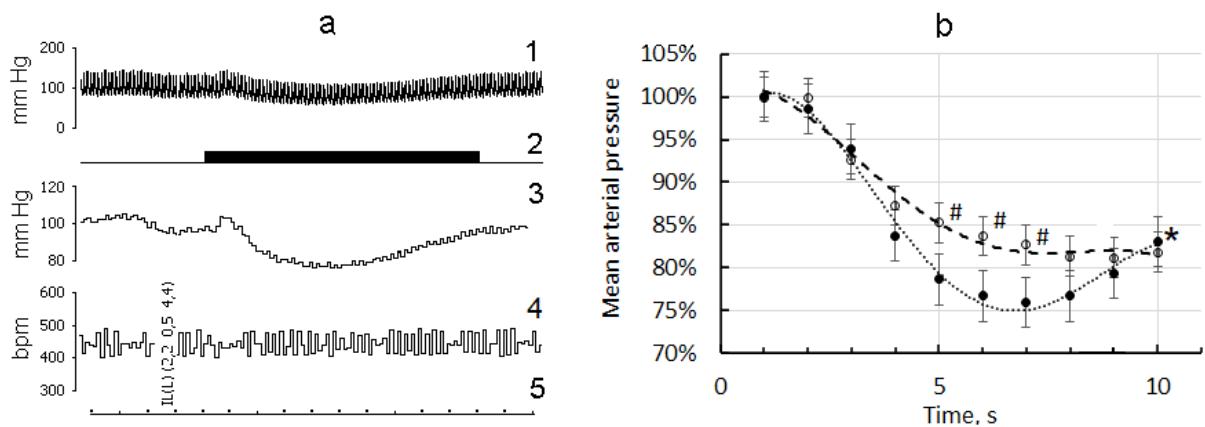


Рис. 2. Депрессорные эффекты микроэлектростимуляции IL и LO.

а – эффект стимуляции IL. 1 – AP, 2 – отметка раздражения, 3 – МАР, 4 – HR, 5 – отметка времени, 1 секунда.

б – изменение МАР, развивающиеся на фоне стимуляции LO (светлые маркеры) и IL (тёмные маркеры). Величина МАР выражена в % к величине этого показателя непосредственно перед нанесением стимула.

- различия между LO и IL достоверны; * - величина МАР на 10-й секунде стимуляции

IL достоверно (при $P < 0,05$) больше его величины на 7-й секунде. амплитуда депрессорных ответов, измеренных на 7-й секунде стимуляции для LO, составляла 18 ± 2 мм рт. ст. а для IL эта величина равнялась 28 ± 1 мм рт. ст.; различия были достоверны при $P < 0,01$.

Реакции системы дыхания. Специфические перестройки паттерна дыхания наблюдались в ответ на стимуляцию как LO (Рис. 3, а, 1), так и IL (Рис. 2, б, 1). обращало на себя внимание отличие в динамике изменений параметров дыхательного цикла. Раздражение LO приводило к уменьшению VT (Рис. 3, а, 3) и Ttot (Рис. 3, а, 4), а также увеличению VI_{max} (Рис. 3, а, 5), при том, что каких-либо определенных изменений VE_{max} наблюдать не удавалось (Рис. 3, а, 6). Стимуляция IL также уменьшала VT (Рис. 3, б, 3) и Ttot (Рис. 3, б, 4), увеличивала VI_{max} (Рис. 3, б, 5), но, в отличие от LO, увеличивало также и VE_{max} (Рис. 3, б, 6). Кроме того, обращали на себя внимание отличия в динамике изменений параметров внешнего дыхания.

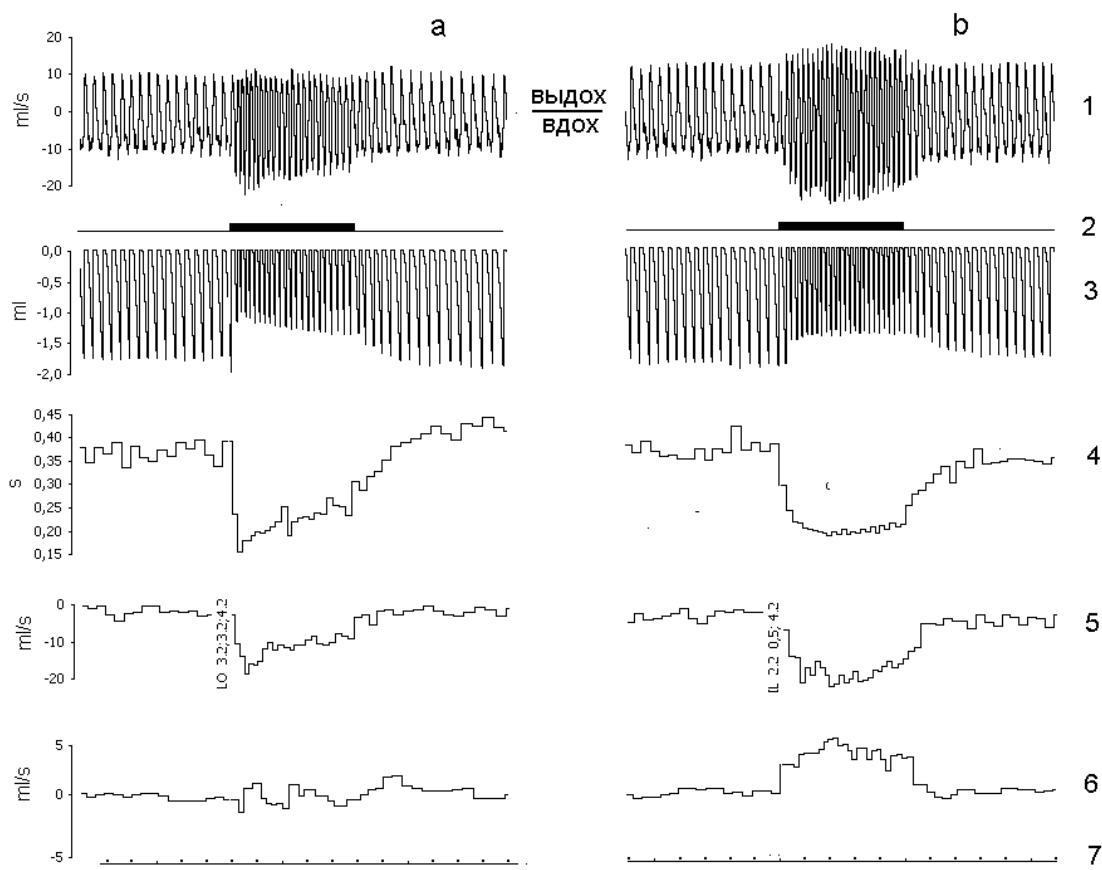


Рис. 3. Реакции системы внешнего дыхания анестезированной крысы на микроэлектростимуляцию LO (а) и IL (б).

1 – PTG; 2 – отметка раздражения; 3, 4, 5, 6 – соответственно VT, Ttot, VI_{max}, VE_{max}; 7 – отметка времени, 2 секунды.

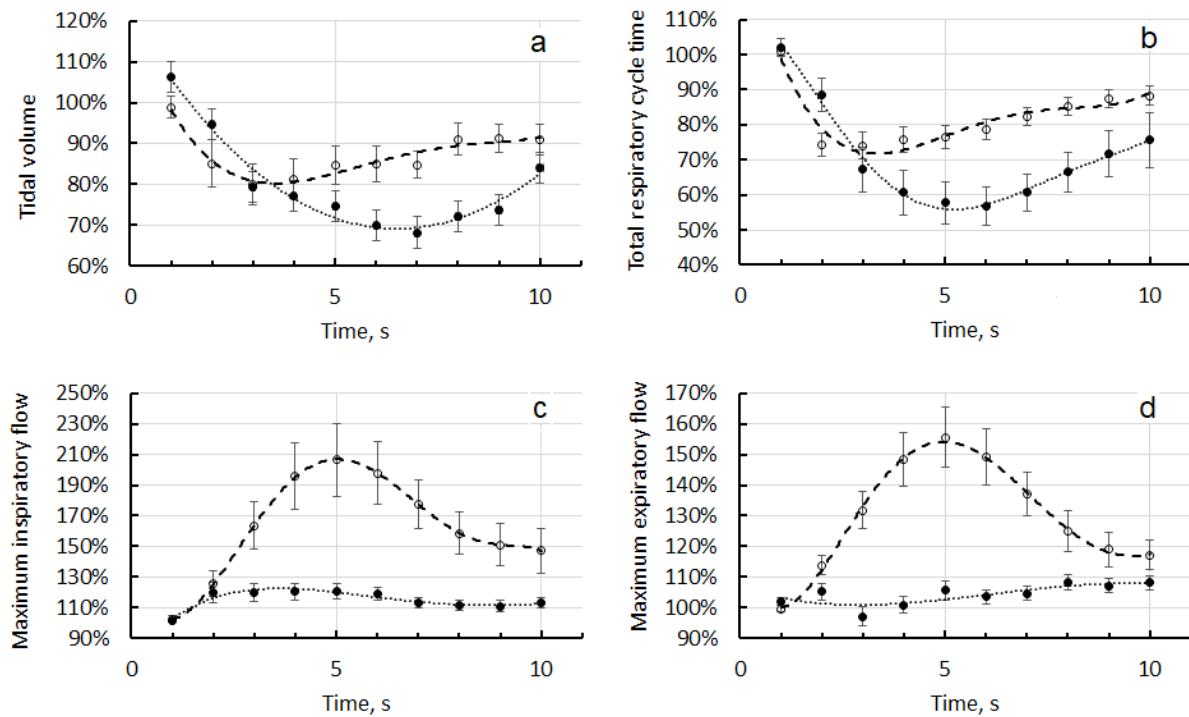


Рис. 4. Изменение объёмно-временных параметров дыхания на фоне стимуляции LO (тёмные кружки) и IL (светлые кружки).

а, б, с и д – соответственно Vt, Ttot, Vimax и Vemax

Все величины выражены в процентах к их значениям непосредственно перед нанесением стимула.

Количественный анализ объёмно-временных параметров дыхания подтвердил эти наблюдения и позволил обнаружить некоторые характерные особенности в динамике этих параметров на фоне стимуляции каждой из исследованных областей (Рис. 4). На фоне стимуляции LO величина VT снижалась до минимальных значений, а затем “ускользала” из-под действия стимула и стабилизировалась (Рис.4, а). На фоне стимуляции IL снижение VT происходило значительно дольше и после достижения минимума этот показатель начинал постепенно расти. Сходным образом изменялась длительность дыхательного цикла (Рис. 4, б). Электростимуляция LO приводила к быстрому росту, а затем постепенному снижению Vimax (Рис. 4, с). Изменения максимальных потоков на выдохе оказались статистически недостоверными (Рис 4, д). В отличие от LO стимуляция IL увеличивала максимальные потоки как на вдохе (Рис 4, с) так и на выдохе (Рис. 4, в). Оба параметра росли, а затем также ускользали из-под действия раздражителя (Рис. 4, с, д). Таким образом, эксперименты показали, что микроэлектростимуляция LO приводит к кратковременному падению МАР, такой же эффект вызывала стимуляция IL. Стимуляция LO вызывала стабильно воспроизводящуюся перестройку паттерна дыхания, которая имела характерные отличия от изменений, вызванных раздражением IL.

Депрессорный эффект стимуляции IL ранее наблюдали и другие авторы, а его механизм достаточно хорошо изучен (Verberneetal1987, Resstel, Corrêa 2006). Известно, в частности, что стимуляция приводит к торможению симпатовозбуждающих нейронов, расположенных в пределах ростральной части вентролатеральной области продолговатого мозга и ослаблению симпатического драйва. Кроме того, есть данные о том, что в этот процесс вовлечены нейроны ядра одиночного тракта, принимающего афферентные потоки от барорецепторов, инициирующих барорефлекс (Owens, Verberneetal 1999). Установлено, что влияние медиальной префронтальной коры на пресимпатические нейроны продолговатого мозга опосредуется нейронами латерального гипоталамуса (LHA) и, возможно, центрального серого вещества (PAG) (Fisk, Wyss 1997).

Депрессорные ответы на электрическую микростимуляцию OFC впервые описаны в настоящем исследовании. Поскольку нисходящие проекции из OFC и, в частности, из LO, достигают уровня LHA и PAG, можно предположить, что механизмы реализации депрессорных эффектов стимуляции LO, близки к тем, которые установлены для IL. Вместе с тем, следует учитывать, что LO не образует прямых проекций к структурам продолговатого мозга и, следовательно, в отличие от IL не может оказывать прямого воздействия на рефлекторные механизмы кардиореспираторного контроля. Кроме того, в настоящей работе было установлено, что депрессорные ответы на стимуляцию LO и IL отличаются не только по амплитуде (ответы на стимуляцию IL достоверно больше), но и по временному течению. Поэтому пути реализации депрессорного эффекта стимуляции LO, по-видимому, имеют определённые особенности по сравнению с IL и требуют дополнительного экспериментального исследования. Учитывая наличие прямых связей между LO и IL, а также общеизвестную висцеромоторную функцию IL, можно предположить, что IL принимает участие в реализации депрессорных ответов на стимуляцию LO. Ещё одним узлом CAN, который может участвовать в реализации обнаруженного эффекта, является LHA.

Реакции системы внешнего дыхания на микроэлектростимуляцию IL, которые были зарегистрированы в настоящем исследовании аналогичны тем, которые были зарегистрированы ранее (Aleksandrovetal 2007). Респираторная реакция на стимуляцию LO впервые описана в настоящей работе, и она имеет вполне определенные черты как сходства, так и отличия по сравнению с реакцией на стимуляцию IL. Прежде всего, на фоне стимуляции LO не меняется $V_{E\max}$, а изменения остальных параметров в процентном отношении менее значительны. Кроме того, динамика изменений учитываемых

параметров при раздражении IL и LO различна, поскольку VT и TTOT снижаются до минимальных значений, а VE_{max} достигает максимальных величин быстрее на фоне стимуляции LO, чем на фоне стимуляции IL. Известно, что паттерн дыхания может модулироваться многими структурами CAN. Эксперименты с введением ретроградного маркёра в PAG, а также в ядра, образующие бульбо-понтинный генератор паттерна дыхания, в том числе в мостовое субпарабрахиальное ядро Кёллика-Фузе (KFn), показали, что IL образует плотные связи с PAG и KFn (Trevizan-Baúetal 2021). Однако в LO меченные нейроны отсутствовали и, следовательно, LO не образует прямых связей с бульбопонтинным генератором паттерна дыхания, хотя и образует выраженные проекции к PAG (Babalianetal 2019).

Таким образом, полученные результаты подтвердили предположение о возможном участии областей OFC в контроле функций кровообращения и дыхания. Можно было полагать, что LO реализует своё влияние на эти функции путём взаимодействия со структурами CAN на кортикоальном и стволовом уровне. Один из вероятных вариантов такого взаимодействия может обеспечиваться связями LO с IL. Эти предположения были подвергнуты прямой экспериментальной проверке на очередном этапе исследования.

Влияние микроинъекций раствора CoCl₂ в IL на эффекты электрической микростимуляции LO

Для решения второй задачи исследования было проведены две серии экспериментов с микроинъекциями в IL раствора CoCl₂ (n=6) и физраствора (n=6). В обеих сериях на фоне непрерывной регистрации AP и PTG каждые 15 мин производили электрическую микростимуляцию LO, так что в каждом эксперименте наносилось 7 стимулов. Микроинъекцию раствора CoCl₂ (или физраствора) выполняли однократно, через 10 мин после нанесения третьего электрического стимула. Стимулирующий микроэлектрод и микроинъектор погружали в точки с координатами, указанными в предыдущем разделе.

Расчёты показали отсутствие достоверных различий между величинами MAP и HR в экспериментальной и контрольной группах. Кроме того, было установлено, что в обеих группах эти показатели не претерпевали достоверных изменений по ходу эксперимента. Микроэлектростимуляция LO не вызывала изменения HR, но приводила к тому, что MAP в течение первых 3 секунд стимуляции снижалось, а затем стабилизировалось на фоне продолжающегося раздражения, причём, такая реакция наблюдалась как в экспериментальной (рис. 5,а), так и в контрольной группах. Эксперименты показали, что микроинъекции CoCl₂ приводили к подавлению этих ответов (рис. 5,б).

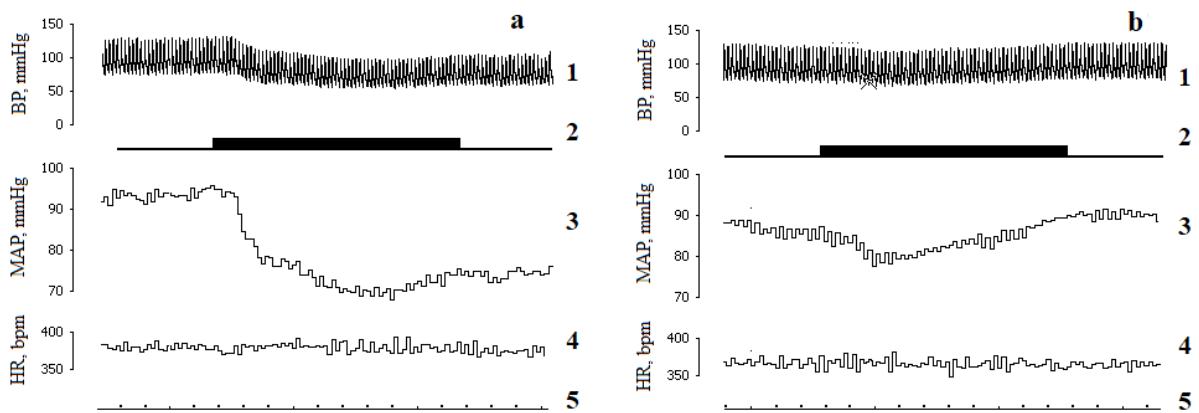


Рис. 5. Нативные записи и результаты обработки депрессорных ответов на микроэлектростимуляцию LO в эксперименте с микроинъекцией раствора CoCl_2 в IL.

(а) – 60-я минута эксперимента (10 мин до микроинъекции), (б) – 75-я минута эксперимента (5 мин после микроинъекции).

1, 2, 3, 4, 5 – соответственно - нативная запись AP, отметка раздражения, MAP, HR, отметка времени (1 с).

Изменения амплитуды депрессорных ответов в ходе эксперимента характеризовали процентным соотношением величины MAP на 3-й секунде стимуляции LO к величине MAP непосредственно перед нанесением стимула. Очевидно, что возрастание этой величины указывало на ослабление реакции. Расчёты показали, что на 75-й минуте эксперимента, то есть уже через 5 мин после введения раствора CoCl_2 в IL, амплитуда депрессорных ответов достоверно уменьшалась по сравнению с их фоновыми значениями, а затем возвращалась к исходному уровню (рис. 6).

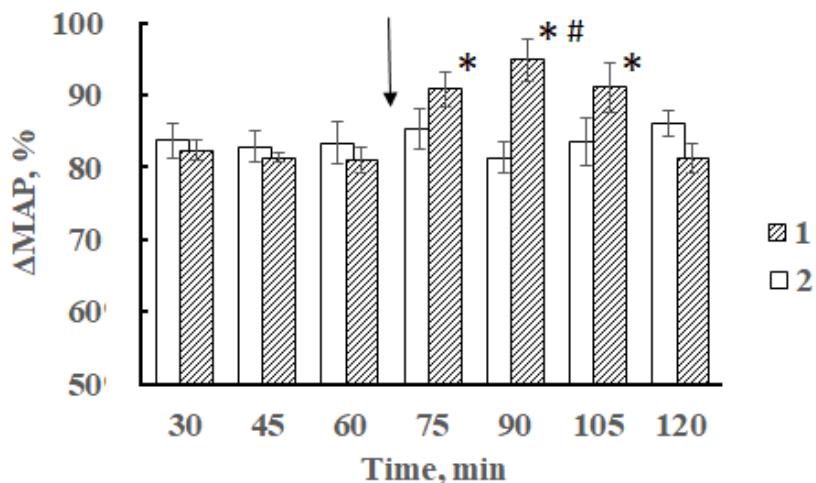


Рис. 6 . Изменение амплитуды депрессорных ответов на микроэлектростимуляцию LO.

1 – эксперименты с введением раствора CoCl_2 , 2 - контрольные эксперименты.

* - достоверные отличия от значений, полученных до введения раствора CoCl_2 ; # - достоверные отличия от значений, полученных в контрольных экспериментах ($p < 0.05$, $n = 6$). Стрелкой обозначен момент введения растворов.

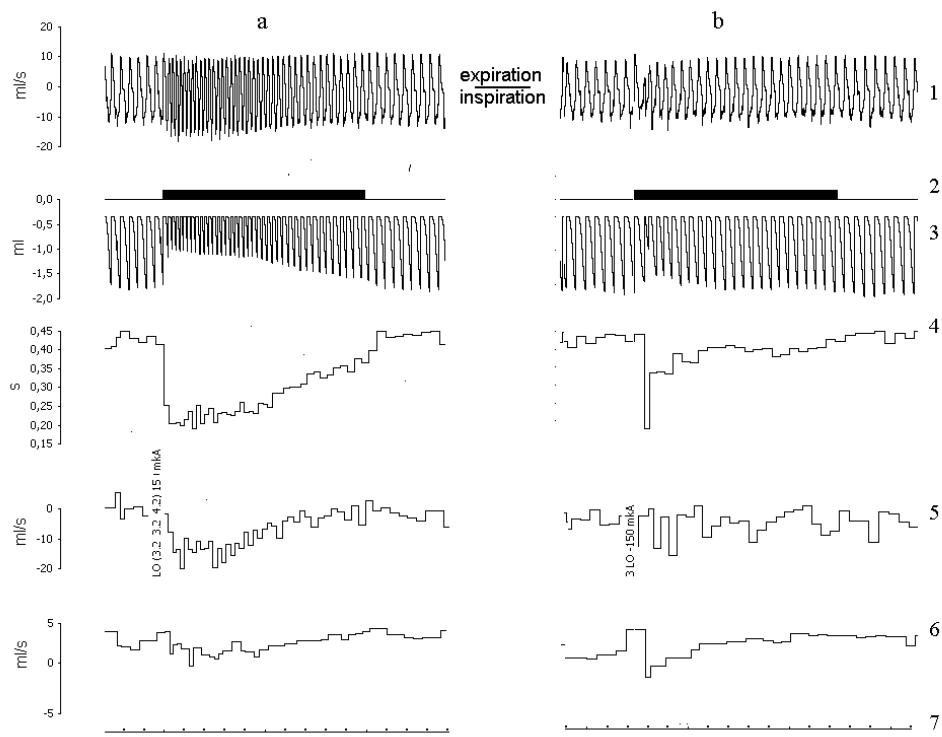


Рис. 7. Перестройки паттерна дыхания при микроэлектростимуляции LO в экспериментах с введением раствора CoCl_2 в IL. Нативная запись PTG и результаты её обработки.

(а) – эффект микростимуляции на 60-й минуте эксперимента (10 мин до введения раствора CoCl_2); (б) – эффект микростимуляции на 75-й минуте того же эксперимента (5 мин после введения раствора CoCl_2)

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 – соответственно - PTG, отметка раздражения, VT, Ttot, Vimax, Vemax, отметка времени (1 с).

В обеих сериях экспериментов микроэлектростимуляция LO вызывала характерные перестройки паттерна дыхания, и эта респираторная реакция исчезала после введения раствора CoCl_2 в IL (рис. 7). Изменения показателей респираторной реакции на микроэлектростимуляцию LO в ходе эксперимента, характеризовали процентным соотношением величин VT и Ttot на 3-й секунде стимуляции LO к их величине непосредственно перед нанесением стимула (рис. 8). До микроинъекции растворов в IL реакции VT (рис. 8, а) и Ttot (рис. 8, б) на микроэлектростимуляцию LO характеризовались стабильностью и отсутствием достоверных различий между экспериментальными группами. После введения раствора CoCl_2 эти реакции достоверно ослабевали, а затем возвращалась к исходному уровню. Резюмируя полученные результаты, можно утверждать, что и в этих экспериментах микроэлектростимуляция LO вызывала реакции систем кровообращения и дыхания в виде падения артериального

давления и перестройки паттерна дыхания, а микроинъекции раствора CoCl_2 в IL подавляли эти эффекты.

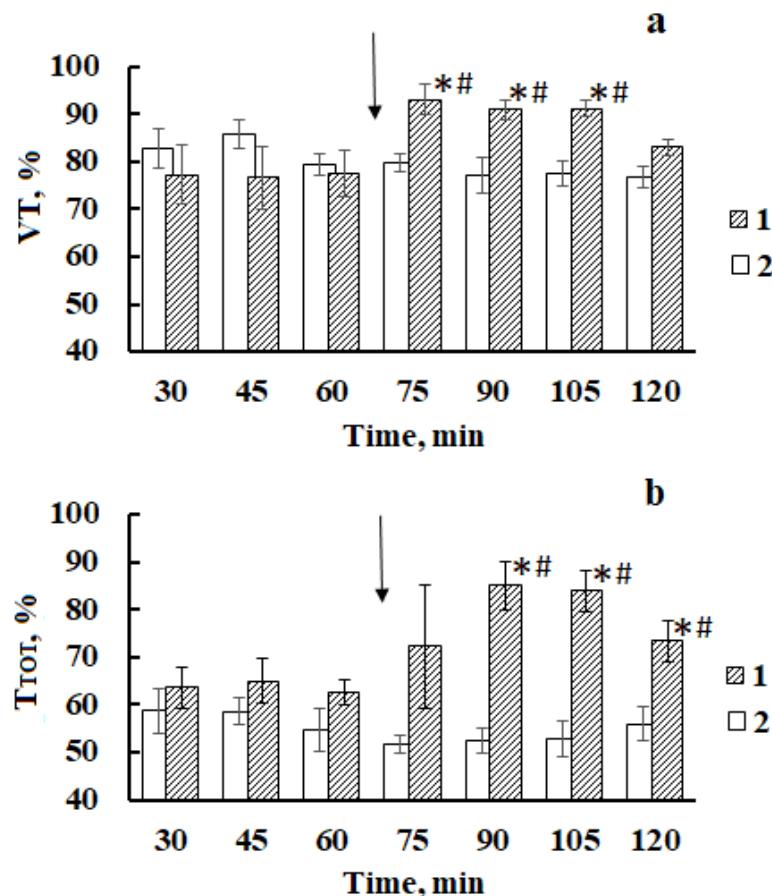


Рис. 8. Изменение объёмно-временных параметров дыхания в ответ на микроэлектростимуляцию LO в экспериментах с микроинъекциями растворов в IL.

(а) – изменение дыхательного объема (VT); (б) – изменение длительности дыхательного цикла (Ttot).

1 – эксперименты с микроинъекциями раствора CoCl_2 ; 2 - контрольные эксперименты с микроинъекциями физраствора. Стрелками обозначен момент микроинъекций растворов в IL. * - достоверные отличия от значений, полученных до введения раствора CoCl_2 ; # - достоверные отличия от значений, полученных в контрольных экспериментах ($p < 0.05$)

Решение очередной задачи настоящего исследования позволило установить, что блокирование висцеромоторной IL обратимо подавляет депрессорные ответы и перестройки паттерна дыхания, вызванные микроэлектростимуляцией LO. По нашему мнению, этот результат прямо подтверждает гипотезу о том, что участие LO в контроле функций дыхания и кровообращения реализуется путём взаимодействия с IL. Очевидно, что это при обсуждении возможных механизмов этого взаимодействия следует опираться, прежде всего на результаты морфологических исследований. Структура интракортикальных связей орбитофронтальной коры крысы к настоящему времени

исследована достаточно подробно (Александров и др. 2022). Установлено, в частности, что LO крысы может быть связана с IL как прямыми связями, так и через проекции к медиальной орбитальной и вентральной орбитальной областям, которые, таким образом, служат связующим звеном между LO и IL(Hoover 2011, Izquierdo 2017,Barreiros 2021). Примечательно, что, по некоторым данным, существуют чёткие структурно-функциональные отличия между ростральной и каудальной частями LO (Barreiros 2021). Прямые проекции к IL (а также к INS) образует по преимуществу задняя часть LO и меченные терминали аксонов идентифицировались в указанных областях mPFC и IPFC после введения антероградного маркера в LO на уровне +3,2 мм относительно bregma. то есть на том же уровне, на котором в наших экспериментах располагался стимулирующий электрод.

Таким образом, полученные результаты доказывают, что IL действительно принимает участие в реализации кардиореспираторных эффектов стимуляции LO и, следовательно, опосредует участие этой области OFC в контроле функций кровообращения и дыхания. Эти результаты доказывают перспективность дальнейшего экспериментального исследования нейрофизиологических и нейрохимических механизмов взаимодействия LO и IL, а также роль других структур CAN в реализации этого взаимодействия.

Влияние электрической микростимуляции LO на BRS

Для решения третьей задачи экспериментального исследования в экспериментах на анестезированных животных ($n=20$) последовательно, с интервалом 10 минут наносили следующие стимулы: электрическая микростимуляция LO, инфузия РНЕ и инфузия РНЕ на фоне микростимуляции LO (Рис. 8). Этот набор стимулов в каждом эксперименте повторяли 4 раза, так что каждый стимул был предъявлен в общей сложности 80 раз. Было установлено, что и в этой серии экспериментов система кровообращения реагировала снижением MAP (рис.8,а), в среднем на 21 ± 1 мм рт. ст. ($n=80$), и эта величина не обнаруживала достоверных изменений в ходе эксперимента ($p=0.44$). Введение РНЕ вызывало закономерное повышение системного АР и рефлекторное снижение HR (рис. 8,б). В результате MAP повышалось в среднем на 41 ± 2 мм рт. ст., а HR понижалась на 38 ± 3 уд.мин $^{-1}$. Средняя величина слопа, рассчитанного для каждого предъявления РНЕ по методике, описанной выше, равнялась $1,07\pm0,07$ уд.мин $^{-1}$; этот показатель не претерпевал закономерных изменений на протяжении всего эксперимента ($p=0,89$). При введении РНЕ на фоне электрической микростимуляции LO развивающийся депрессорный ответ

прерывался прессорной реакцией на РНЕ (рис. 8,с). Расчёты показали, что средняя величина склона при тестировании BRS на фоне электрической микростимуляции LO

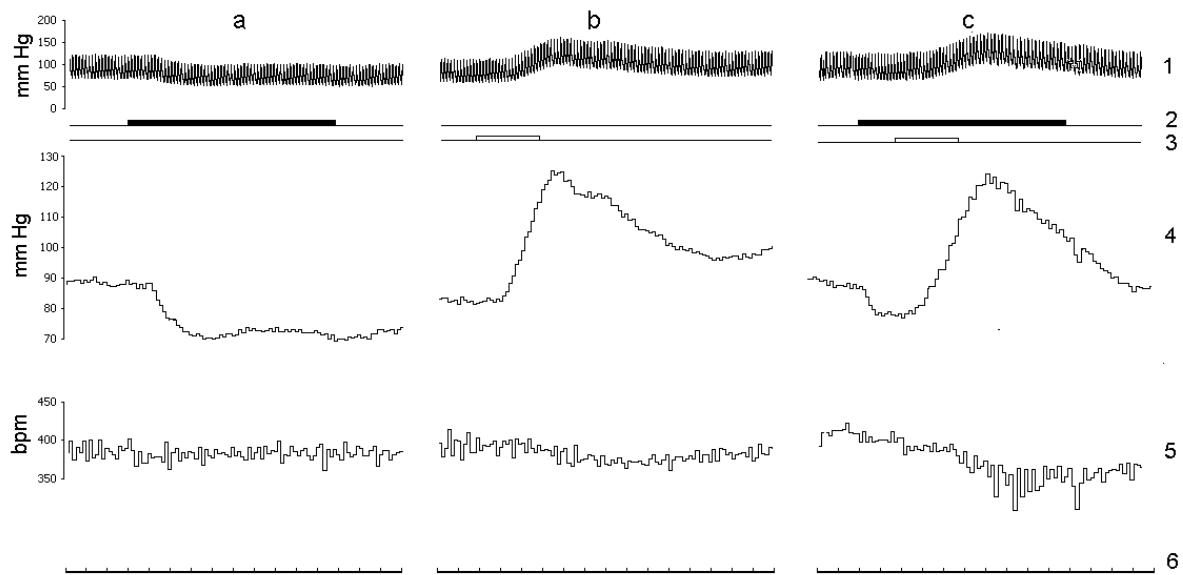


Рис. 9. Реакции системы кровообращения на экспериментальные воздействия, зарегистрированные в репрезентативном эксперименте.

а - электрическая микростимуляция LO; б - микроинфузия РНЕ; с – микроинфузия РНЕ на фоне микростимуляции LO.

1 – нативная запись АР; 2 – отметка микростимуляции LO; 3 – отметка микроинфузии РНЕ; 4 – МАР; 5 – HR; 6 – отметка времени 1с.

составляла 1.37 ± 0.12 уд.мин⁻¹, то есть величина этого показателя достоверно ($p=0.037$) увеличивалась.

Таким образом, эксперименты показали, что в условиях общей анестезии, вызванной уретаном, при стабильно воспроизводящихся реакциях системы кровообращения на электрическую микростимуляцию LO, на введение вазоактивного агента РНЕ и на сочетание этих стимулов, электрическая микростимуляция LO вызывает усиление BRS.

Имеющиеся литературные данные указывают на определённую специфику модулирующего влияния IL и INS на BR. По-видимому, IL оказывает главным образом облегчающее влияние на BR, в то время как различные экспериментальные подходы позволили выявить как облегчающее, так и тормозное влияние INS. При этом, возможность тормозного влияния INS на BR была продемонстрирована в тех же экспериментальных условиях, что и облегчающий эффект электрической микростимуляции LO(Tumanova et al 2022). Поэтому, при обсуждении возможных путей

реализации обнаруженного эффекта следует прежде всего выдвинуть предположение о возможной опосредующей роли IL. В пользу этой гипотезы свидетельствуют данные о наличии связей между LO и IL, причём установлено, что прямые проекции к IL образует по преимуществу задняя часть LO, то есть именно та её часть, которая подвергалась микростимуляции в настоящем исследовании (Barreirosetal 2021, Александров и др 2022). Кроме того, тот факт, что депрессорные ответы на электрическую микростимуляцию LO можно заблокировать микроинъекциями CoCl_2 в IL, прямо доказывает наличие функциональной связи между этими областями коры. Имеющиеся данные не позволяют исключить участие INS в реализации обнаруженного нового эффекта электрической микростимуляции LO, тем более что задняя часть LO образует прямые проекции не только к IL, но и к INS, которая, в свою очередь, проецируется в IL (Mathiasen 2023). Как известно (Wehrwein 2013), в замыкании рефлекторных дуг, участвующих в реализации BR, участвуют такие узлы CAN, как дорсальный комплекс ядер блуждающего нерва (DVC) и вентролатеральное мозговое вещество продолговатого мозга (DVC). С другой стороны, как IL, так и INS образуют прямые проекции к этим бульбарным структурам (Aleksandrov 2021). Поэтому обычно предполагается, что пирамидные нейроны IL и INS, посылающие аксоны на бульбарный уровень, модулируют активность нейронов, образующих дуги BR. Однако в отличие от IL и INS, поля OFC не образуют прямых проекций к структурам продолговатого мозга и, следовательно не способны напрямую модулировать дугу BR. Вместе с тем, показано, что LO прямо связана со ядрами гипоталамуса (HYP), а также с околоводопроводным (центральным) серым веществом (PAG), которые, в свою очередь, образуют проекции к структурам продолговатого мозга, обеспечивающим замыкание дуги BR (Babalian etal 2019, Александров и др 2022). Установлено, что микроинъекции CoCl_2 в латеральную область HYP ослабляли рефлекторный брадикардиический эффект подъёма AP, что предполагает существование облегчающего влияние этого отдела HYP на BR (Reis-Silvaet al. 2021). Способность PAG модулировать BR была подтверждена экспериментами, в которых микроинъекции лидокаина, а также CoCl_2 в PAG усиливала симпатический компонент BR (Pelosietal 2007).

Таким образом, анализ имеющихся литературных данных позволяет выдвинуть предположение о том, что в реализации обнаруженного модулирующего влияния LO на BR могут принимать участия несколько структур, входящих в состав CAN. Это прежде всего IL, с меньшей вероятностью INS, а также структуры HYP и PAG. Проверка этих гипотез может стать предметом дальнейших экспериментальных исследований.

Заключение

Решением всех задач настоящего исследования позволило установить несколько важных фактов. Прежде всего, было показано, что электрическая микростимуляция LO, которая является одной из областей OFC, вызывает депрессорные реакции системного артериального давления, обладающие определёнными специфическими чертами по сравнению с депрессорными реакциями, которые наблюдаются в ответ на электрическую стимуляцию IL. Одновременно на фоне электрической микростимуляции LO происходили специфические перестройки паттерна дыхания. Было установлено также, что депрессорный эффект электрической микростимуляции LO обратимо подавляется в результате микроинъекции раствора CoCl_2 в IL. Этот факт доказывает, что, по-видимому, автономные функции LO реализуются при участии IL. Наконец, было установлено, что электрическая микростимуляция LO усиливает BRS, что доказывает возможность модулирующего влияния LO на BR. Таким образом, решение поставленных задач позволило достигнуть цели исследования, выдвинутая гипотеза была подвергнута экспериментальной проверке и получила подтверждение. Тем самым был отчасти заполнен пробел в существующих представлениях о механизмах, которые обеспечивают вовлечение OFC в автономный контроль.

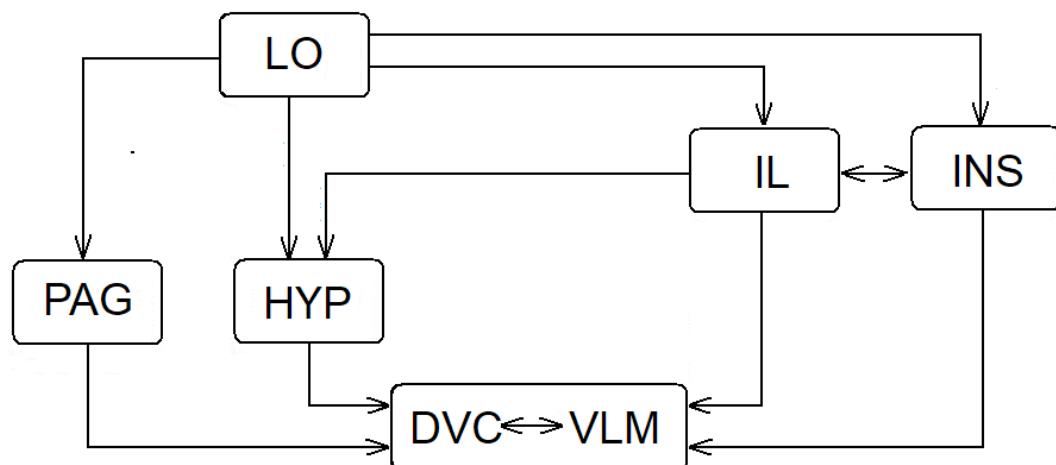


Рис. 10. Возможные пути реализации обнаруженных эффектов электрической микростимуляции LO.

Обозначения на схеме соответствуют сокращениям, приведенным в тексте.

Намечая направления дальнейших исследований следует иметь в виду, что полученные результаты не позволяют исключить участие INS в реализации обнаруженных эффектов электрической микростимуляции LO, поскольку LO образует прямые проекции не только к IL, но и к INS, которая, в свою очередь, проецируется в IL (Hoover, Vertes 2011, Mathiasen et al. 2023). В отличие от IL и INS, поля OFC не образуют прямых проекций к структурам продолговатого мозга и, следовательно, не способны напрямую модулировать процессы, обеспечивающие генерацию паттернов активности систем кровообращения и дыхания, а также функционирование рефлекторных дуг, регулирующих дыхание и кровообращение. Однако, LO прямо связана со ядрами гипоталамуса (HYP), также с околоводопроводным (центральным) серым веществом (PAG), которые, в свою очередь, образуют проекции к бульбарным структурам, обеспечивающим регуляцию кровообращения и дыхания. (Hirose et al. 2016, Babalian et al. 2019, Александров и др. 2022). Основываясь на этих данных, можно предположить, что перспективным направлением дальнейших исследований могло бы стать изучение закономерностей взаимодействия LOcINS, а также с HYP и PAG (рис. 10).

Выводы

1. Латеральная орбитальная область коры больших полушарий участвует в контроле функций кровообращения и дыхания, что доказывается специфическими перестройками паттернов активности систем кровообращения и дыхания при экспериментальных воздействиях на указанную область коры.
2. Участие латеральной орбитальной коры в контроле функции кровообращения опосредуется висцеромоторной инфралимбической корой, что проявляется в исчезновении эффектов электрической микростимуляции латеральной орбитальной коры при блокировании синаптической передачи внутри инфралимбической коры.
3. Одним из механизмов, посредством которых латеральная орбитальная кора участвует в контроле функции кровообращения является модуляция артериального барорефлекса, о чём свидетельствует усиление барорефлекторной чувствительности на фоне электрической микростимуляции латеральной орбитальной коры.
4. Полученные результаты доказывают, что поля префронтальной коры, расположенные на орбитальной поверхности больших полушарий, могут участвовать в контроле автономных функций путём взаимодействия с кортикальными узлами центральной автономной сети, модулируя паттерны активности автономных систем и их рефлекторные механизмы.

Список публикации по теме научно-квалификационной работы

Статьи

1. Александров В. Г., Губаревич Е. А. и др. Орбитофронтальная кора в системе центрального управления автономными функциями. Успехи физиологических наук, 2022, том 53, № 3, с. 45–53 doi:10.31857/S0301179822030031 (**ВАК**)
2. Александров . В.Г., Губаревич Е. А., и др. Центральная автономная сеть. Физиология человека, 2022, том 48, № 6, с. 1–8. doi:10.31857/S0131164622600550 (**ВАК**)
3. Кокурина Т.Н., Губаревич Е.А. и др. Микроэлектростимуляция латеральной орбитальной коры анестезированной крысы вызывает специфические реакции кардиореспираторной системы. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, 2022, том 108, №12, с.1695-1705. doi:10.31857/S0869813922120068(**ВАК**)
4. Губаревич Е.А., Кокурина Т.Н. и др. Микроинъекции раствора хлорида кобальта в инфралимбическую кору подавляют реакции систем кровообращения и дыхания крысы на микроэлектростимуляцию латеральной орбитальной коры. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2024. том 110. № 2. с. 216–229. doi:10.31857/S0869813924020058(**ВАК**)
5. Губаревич Е.А., Рыбакова Г.И., и др. Электрическая микростимуляция латеральной орбитальной коры анестезированной крысы усиливает барорефлекторную чувствительность (**проходит рецензирование**)
6. Александров В.Г., Губаревич Е.А.и др. Влияние электростимуляции орбитофронтальной коры на систему кровообращения анестезированной крысы. Интегративная физиология. 2021.т. 2.№3. с. 297-306. doi:10.33910/2687-1270-2021-2-3-297-306

Тезисы

7. Александров В. Г., Губаревич Е. А., Кокурина Т. Н., Рыбакова Г.И., Туманова Т.С. Интегративные функции орбитофронтальной коры. Журнал эволюционной биохимии и физиологии, 2020, том 56, № 7, с. 526
8. Губаревич А.Е., Кокурина Т.Н., Рыбакова Г.И., Александров В.Г.(0.166) Сравнительный анализ кардиореспираторных эффектов стимуляции инфралимбической и орбитофронтальной коры // Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология» Санкт-Петербург, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 8-10 декабря 2021 года
9. Губаревич Е.А. , Кокурина Т.Н. , Рыбакова Г.И. , Туманова Т.С., Александров В.Г. Введение хлорида кобальта в медиальную префронтальную кору анестезированной крысы устраниет кардиореспираторные эффекты стимуляции ипсолатеральной орбитофронтальной коры // Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология» Санкт-Петербург, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 8-10 декабря 2022 года
10. Туманова Т.С., Маркова А.Ю., Губаревич Е.А., Кокурина Т.Н., Рыбакова Г.И., Александров В.Г. Направленность эффектов стимуляции латеральной орбитальной коры анестезированной крысы на артериальное давление и барорефлекторную чувствительность зависят от исходной величины этих параметров // Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология» Санкт-Петербург, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 8-10 декабря 2022 года

11. Кокурина Т.Н., Губаревич Е.А. Микроэлектростимуляция орбитофронтальной коры вызывает реакции систем дыхания и кровообращения анестезированной крысы. Доклад на XXVIII Всероссийская конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2022»
12. Туманова Т.С., Маркова А.Ю., Губаревич Е.А. Реакции системы кровообращения на микроэлектростимуляцию орбитофронтальной коры анестезированной крысы. Доклад на XXIV Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2022»
13. Губаревич Е.А., Кокурина Т.Н., Рыбакова Г.И., Туманова Т.С., Александров В.Г. Микроэлектростимуляция латеральной орбитальной коры анестезированной крысы вызывает специфические перестройки паттерна дыхания. XXIV Съезд физиологического общества им. И.П. Павлова (2023)
14. Рыбакова Г.И., Кокурина Т.Н., Губаревич Е.А., Александров В.Г. Микроинъекции раствора хлорида кобальта в инфралимбическую кору подавляют респираторные эффекты стимуляции орбитофронтальной коры. XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, 11-15 сентября 2023г
15. Кокурина Т.Н., Рыбакова Г.И., Губаревич Е.А., Александров В.Г. Микроэлектростимуляция инсулярной коры анестезированной крысы тормозит респираторные эффекты стимуляции орбитофронтальной коры XXIV съезд физиологического общества им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, 11-15 сентября 2023г
16. Губаревич Е.А., Кокурина Т.Н., Рыбакова Г.И., Туманова Т.С., Александров В.Г. Микроэлектростимуляция латеральной орбитальной коры вызывает специфические реакции кардиореспираторной системы анестезированной крысы. Всероссийская конференция с международным участием «Интегративная физиология-2023». Санкт-Петербург. 6-8 декабря 2023

Список использованных литературных источников

1. Александров В.Г., Губаревич Е.А., Кокурина Т.Н., Рыбакова Г.И., Туманова Т.С. (2022) Орбитофронтальная кора в системе центрального управления автономными функциями. Успехи физиол наук 53(3): 45-53. [AleksandrovVG, GubarevichEA, KokurinaTN, RybakovaGI, TumanovaTS (2022) Orbitofrontalcortexinthesystemofthecentralautonomiccontrol.Uspekhifiziolnauk 53(3): 45-53. (InRuss)]. doi: 10.31857/S0301179822030031]
2. Aleksandrov V.G., Gubarevich E.A., Kokurina T.N., Rybakova G.I., and Tumanova T.S. (2022). Central Autonomic Network. Human Physiol 48(6):715–721. doi: 10.1134/S0362119722600412
3. Aleksandrov V.G., Ivanova T.G., Aleksandrova N.P. (2007) Prefrontal control of respiration. J Physiol Pharmacol 58 (Suppl 5):17-23.
4. Aleksandrov V.G., Kokurina T.N., Rybakova G.I., Tumanova T.S. (2021) Autonomic functions of the prefrontal cortex. Human Physiology 47(5):571–578. doi: 10.1134/S0362119721050029
5. Babalian A., Eichenberger S., Bilella A., Girard F., Szabolcsi V., Roccaro D., Alvarez-Bolado G., Xu C., Celio M.R. (2019) The orbitofrontal cortex projects to the parvafasciculus nucleus of the ventrolateral hypothalamus and to its targets in the ventromedial periaqueductal grey matter. Brain StructFunct 224(1):293-314. doi: 10.1007/s00429-018-1771-5.

6. Barreiros I.V., Ishii H., Walton M.E., Panayi M.C. (2021) Defining an orbitofrontal compass: functional and anatomical heterogeneity across anterior-posterior and medial-lateral axes. *Behav Neurosci* 135(2): 165–173. doi:10.1037/bne0000442
7. Benarroch E.E. (1993) The central autonomic network: functional organization, dysfunction, and perspective. *Mayo Clin Proc* 68(10):988-1001. doi: 10.1016/s0025-6196(12)62272-1.
8. Cattaneo L.A., Franquillo A.C., Grecucci A., Beccia L., Caretti V., Dadomo H (2021) Is Low heart rate variability associated with emotional dysregulation, psychopathological dimensions, and prefrontal dysfunctions? An integrative view. *J Pers Med.* v.11. P.872. doi: 10.3390/jpm11090872.
9. Ferreira-Junior N.C., Crestani C.C., Lagatta D.C., Resstel L.B.M., Correa F.M.A., Alves F.H.F. (2020) Nitric oxide in the insular cortex modulates baroreflex responses in a cGMP-independent pathway. *Brain Res* 1747:147037. doi: 10.1016/j.brainres.2020.147037.
10. Ferreira-Junior N.C., Fedoce A.G., Alves F.H., Resstel L.B. (2013) Medial prefrontal cortex N-methyl-D-aspartate receptor/nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway modulates both tachycardic and bradycardic baroreflex responses. *J Neurosci Res* 91(10):1338-48. doi: 10.1002/jnr.23248.
11. Fisk G.D., Wyss J.M. (2000) Descending projections of infralimbic cortex that mediate stimulation-evoked changes in arterial pressure. *Brain Res* 859(1):83-95. doi: 10.1016/s0006-8993(00)01935-1.
12. Fortaleza E.A., Scopinho A.A., Corrêa F.M. (2012) Paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus mediate cardiovascular responses evoked by the microinjection of noradrenaline into the medial amygdaloid nucleus of the rat brain. *Neuroscience.* v.219. p.157–165. doi:10.1016/j.neuroscience.2012.05.051
13. Hoover W.B., Vertes R.P. (2011) Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *J Compar Neurol* 519(18): 3766-801. doi: 10.1002/cne.22733
14. Izquierdo A. (2017) Functional heterogeneity within rat orbitofrontal cortex in reward learning and decision making. *The Journal of Neuroscience.* v.37. № 44. p.10529–10540
15. Lagatta D.C., Ferreira-Junior N.C., Resstel L.B. Medial prefrontal cortex TRPV1 channels modulate the baroreflex cardiac activity in rats (2015) *Br J Pharmacol* 172(22):5377-89. doi: 10.1111/bph.13327.
16. Lamotte G., Shouman K., Benarroch E.E. (2021) Stress and central autonomic network. *Auton Neurosci* 235:102870. doi: 10.1016/j.autneu.2021.102870.
17. Marins F.R., Limborço-Filho M., Xavier C.H., Biancardi V.C., Vaz G.C., Stern J.E., Oppenheimer S.M., Fontes M.A. (2016) Functional topography of cardiovascular regulation along the rostrocaudal axis of the rat posterior insular cortex. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 43(4):484-93. doi: 10.1111/1440-1681.12542.
18. Mathiasen M.L., Aggleton J.P., Witter M.P. (2023) Projections of the insular cortex to orbitofrontal and medial prefrontal cortex: a tracing study in the rat. *Front Neuroanatom* 17: 1131167. doi: 10.3389/fnana.2023.1131167
19. Nagai M., Hoshide S., Kario K. (2010) The insular cortex and cardiovascular system: a new insight into the brain-heart axis. *J Am SocHypertens.* v.4. P.174-82. doi: 10.1016/j.jash.2010.05.001.

20. Owens N.C., Verberne A.J. (1996) An electrophysiological study of the medial prefrontal cortical projection to the nucleus of the solitary tract in rat. *Exp Brain Res.*. v.110. №1. p.55-61. doi: 10.1007/BF00241374.
21. Owens NC, Verberne AJ (1996) An electrophysiological study of the medial prefrontal cortical projection to the nucleus of the solitary tract in rat. *Exp Brain Res* 110(1):55-61. doi: 10.1007/BF00241374.
22. Pelosi GG, Resstel LB, Corrêa FM (2007) Dorsal periaqueductal gray area synapses modulate baroreflex in unanesthetized rats. *Auton Neurosci* 131(1-2):70-6. doi: 10.1016/j.autneu.2006.07.002.
23. Reis-Silva LL, Barreto-de-Souza L, Benini R, Crestani CC (2021) CRF1 and CRF2 receptors in the lateral hypothalamus differently modulate the baroreflex function in unanesthetized rats. *Brain Res* 1751:147195. doi: 10.1016/j.brainres.2020.147195.
24. Resstel L.B., Corrêa F.M. (2006) Involvement of the medial prefrontal cortex in central cardiovascular modulation in the rat. *Auton Neurosci*. v.126-127. p.130-138. doi: 10.1016/j.autneu.20.06.02.022.
25. Resstel LB, Corrêa FM (2005) Pressor and tachycardic responses evoked by microinjections of L-glutamate into the medial prefrontal cortex of unanaesthetized rats. *Eur J Neurosci* (9):2513-20. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04078.x.
26. Resstel LB, Fernandes KB, Corrêa FM (2004) Medial prefrontal cortex modulation of the baroreflex parasympathetic component in the rat. *Brain Res* 1015(1-2):136-44. doi: 10.1016/j.brainres.2004.04.065.
27. Rudebeck P.H., Rich E.L. (2018) Orbitofrontal cortex. *Curr Biol*. v.28. p.1083-R1088. doi: 10.1016/j.cub.2018.07.018.
28. Savić B, Murphy D, Japundžić-Žigon N (2022) The Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus in Control of Blood Pressure and Blood Pressure Variability. *Front Physiol*. 13:858941. doi: 10.3389/fphys.2022.858941.
29. Smith R, Thayer JF, Khalsa SS, Lane RD (2017) The hierarchical basis of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev* 75:274-296. doi: 10.1016/j.neubiorev.2017.02.003.
30. Tumanova TS, Kokurina TN, Rybakova GI, Aleksandrov VG (2022) Dexamethasone attenuates the modulatory effect of the insular cortex on the baroreflex in anesthetized rat. *Can J Physiol Pharmacol*. 100(4):334-340. doi: 10.1139/cjpp-2021-0385.
31. Van Eden C.G., Buijs R.M. (2000) Functional neuroanatomy of the prefrontal cortex: autonomic interactions. *Prog Brain Res*. 2000. v.126. p.49-62. doi: 10.1016/S0079-6123(00)26006-8
32. Verberne AJ, Lewis SJ, Worland PJ, Beart PM, Jarrott B, Christie MJ, Louis WJ (1987) Medial prefrontal cortical lesions modulate baroreflex sensitivity in the rat. *Brain Res* 426(2):243-9. doi: 10.1016/0006-8993(87)90878-x.
33. Wehrwein EA, Joyner MJ (2013) Regulation of blood pressure by the arterial baroreflex and autonomic nervous system. *Handb Clin Neurol* 117: 89–102. doi.org/10.1016/B978-0-444-53491-0.00008-0
34. Александров ВГ, Губаревич ЕА, Кокурина ТН, Рыбакова ГИ, Туманова ТС (2022) Орбитофронтальная кора в системе центрального управления автономными функциями. *Успехи физиологии* 53(3): 45-53. [Aleksandrov VG, Gubarevich EA, Kokurina TN, Rybakova

GI, Tumanova TS (2022) Orbitofrontal cortex in the system of the central autonomic control. Uspekhifiziolnauk 53(3): 45-53. [In Russ)]. doi: 10.31857/S0301179822030031